



AZƏRBAYCAN ELM FONDU

**Azərbaycan Elm Fondunun
“Gənc Alim və Tədqiqatçıların 7-ci
qrant müsabiqəsi”nin (AEF-GAT-7-2023-2(44))
qalibi olmuş layihənin yerinə yetirilməsi üzrə aralıq
(rüblük olaraq 3-cü mərhələ)**

ELMİ-TEXNİKİ HESABAT

Layihənin adı: **Bitki və insan kök hüceyrələrindən nano ölçülü ekstraselulyar vezikulların izolyasiyası, xarakteristikası və insan patogenlərinə qarşı antimikrobiaal təsirinin in vitro öyrənilməsi**

Layihə rəhbərinin soyadı, adı və atasının adı: **Həşimova Leyla Nurəddin qızı**

Layihənin nömrəsi: **AEF-GAT-7-2023-2(44)-10/06/3-M-06**

Müqavilənin imzalanma tarixi: **06 dekabr 2023-cü il**

Qrant layihəsinin yerinə yetirilmə müddəti: **18 ay**

Layihənin icra müddəti (başlama və bitmə tarixi): **01 yanvar 2024-cü il - 01 iyul 2025-ci il**

Layihənin III mərhələ üzrə (rüb) məbləği:

Hesabatda aşağıdakı məsələlər işıqlandırılmalıdır:

1	<p>Layihənin həyata keçirilməsi üzrə cari rübdə yerinə yetirilmiş elmi işlər</p> <p>Layihənin 3-cü mərhələsində kök hüceyrə mənşəli ekstraselulyar vezikulların əldə edilməsi planlaşdırılmışdı. Ekstrasellulyar vezikullar, hüceyrələrin mühitə buraxdığı və hüceyrələrarası kommunikasiya, metabolizm və immun cavab kimi proseslərdə əhəmiyyətli rol oynayan nanoölçülü hissəciklərdir. Bu mərhələnin icrası, bu vezikulların analizi və onların potensial antimikrobiaal tətbiq saələrinin müəyyən edilməsi üçün kritik əhəmiyyət daşıyır.</p> <p>Ancaq hal-hazırda, bu prosesin həyata keçirilməsi reaktivlərin mövcud olmaması səbəbindən mümkün olmamışdır. Ekstrasellulyar vezikulların əldə edilməsi üçün spesifik reaktivlər və protokollar tələb olunur ki, bunlar da vezikulların düzgün şəkildə izolyasiyasında və karakterizasiyasında vacibdir.</p> <p>Layihənin 1-ci mərhələsində qeyd edilən dərman bitkilərindən ekstraktlar alınmış və <i>S. Areus</i>, <i>E.Coli</i> və <i>K.pneumonia</i> bakteriya ştammları üzərində antimikrobiaal təsiri müəyyən edilmişdir. Burada başlıca məqsədimiz bitkilərdən əldə edilən ekstraktların və ekstraselulyar vezikulların antimikrobiaal təsirlərini qarşılaşdırmaq idi. Bu yanaşma, bitki mənşəli ekstraselulyar vezikulların tibbi potensialını daha da aydınlaşdırmağa kömək edəcəkdir.</p> <p>Eyni zamanda, kök hüceyrə kulturaları əldə edilmiş və eksozomların izolyasiyası üçün hazır vəziyyətə gətirilmişdir. Ekstrasellulyar vezikullar müvəffəqiyyətlə əldə edildiyi təqdirdə bu nanoölçülü komponentlərin antimikrobiaal və antileişmanial təsirlərinin araşdırılması planlaşdırılmaqdadır.</p>
----------	--

2	Layihənin həyata keçirilməsi üzrə planda nəzərdə tutulmuş işlərin yerinə yetirilmə dərəcəsi (cari rüb üçün, faizlə qiymətləndirməli)
	<i>(burada doldurmalı)</i>
3	Hesabat dövründə alınmış elmi nəticələr , onların yenilik dərəcəsi
	<i>(burada doldurmalı)</i>
4	Layihənin yerinə yetirilməsi zamanı istifadə olunan üsul və yanaşmalar
	<p>Ekstrasellülar vezikulların əldə edilməsi və saflaşdırılması prosesində ultrasentrifüqa cihazı olduqca mühüm rol oynayır. Bu cihaz, çox yüksək sürətlə fırlana bilən rotorlar vasitəsilə bioloji nümunələrdəki müxtəlif ölçü və sıxlığa malik hissəcikləri effektiv şəkildə ayırmaq üçün istifadə olunur. Ultrasentrifüqa cihazının çalışma prinsipi əsasən mayelərdəki fərqli hissəciklərin mərkəzdənqaçma qüvvəsinin təsiri ilə müxtəlif sürətlərdə çökməsinə əsaslanır.</p> <p>Ultrasentrifüqa Cihazının İstifadəsi və Proses Mərhələləri</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nümunənin Hazırlanması: İlk addım olaraq, hüceyrə kultürü, serum, plazma kimi bioloji mayelərdən və ya bitki şirələrindən nümunələr götürülür. Nümunələr, uyğun ölçüdə olan santrifüj tüplərinə yerləşdirilir. Numunədəki böyük hissəcikləri (hüceyrə qalıqları və böyük proteinlər) ayırmaq üçün ilkin olaraq aşağı sürətli santrifüj tətbiq edilir. Beləliklə, ekstrasellülar vezikullar və digər kiçik hissəciklər saf bir şəkildə ayrılmağa hazırlanır. • Sürətin və Vaxtın Təyin Edilməsi: Daha sonra ultrasentrifüqa cihazı çox yüksək sürətlə işlədilir. Ekstrasellülar vezikulların (EV) əldə edilməsi üçün adətən 100.000 g və ya daha yüksək sürət lazımdır. Bu qədər yüksək sürətlə işləmə, adətən 2-4 saat kimi uzun müddət tələb edir. Çünki EV-lər çox kiçik və yüngül hissəciklərdir və daha yavaş çökürlər. Daha böyük hissəciklər üçün isə cihaz daha aşağı sürətlərdə quraşdırıla bilər, çünki onların ayrılması üçün bu qədər yüksək qüvvəyə ehtiyac yoxdur. • Çökmə və Ayrılma: Ultrasentrifüj cihazı işlədikdən sonra numunədəki hissəciklər sıxlıqlarına və ölçülərinə görə rotorun altına doğru çökür. Mərkəzdənqaçma qüvvəsi ilə daha sıx və böyük hissəciklər daha sürətli çökmə göstərir, kiçik hissəciklər isə daha yavaş bir şəkildə yerə yığılır. Ekstrasellülar vezikullar kimi nano ölçülü hissəciklər bu prosesdə ən yavaş çökmə edənlərdən biridir. • Pelletin Toplanması: Santrifüj tamamlandıqdan sonra, tüplərin dibində toplanan pellet (çökmüş maddə) ehtiyatla götürülür. Bu pellet, adətən ekstrasellülar vezikulların toplandığı hissədir. Sonra bu pellet təmiz tampon məhlulu ilə (məsələn, PBS - fosfat tamponlu salin) yenidən həll edilir və növbəti saflaşdırma mərhələlərinə hazırlanır. • Təmizləmə və Saflaşdırma: Ekstrasellülar vezikulların saflığını daha da artırmaq üçün bəzi hallarda əlavə təmizləmə üsulları tətbiq oluna bilər. Gradient sentrifüqa və ultrafiltrasiya kimi texnikalar, çox yüksək səviyyədə təmizlik əldə etməyə kömək edir.

Ultrasentrifüqa cihazı müasir biotexnologiya və bioloji araşdırmaların əvəzolunmaz bir hissəsidir. Ekstrasellülar vezikullar, viruslar, proteinlər və digər bioloji maddələrin effektiv şəkildə ayrılması və saflaşdırılmasında geniş istifadə edilir.

Ultrasentrifüqasiyanın üstünlükləri və çətinlikləri

Üstünlüklər:

Yüksək Həssaslıq: Çox kiçik molekulları effektiv şəkildə ayıra bilir.

Effektivlik: Bir çox hissəciyi eyni zamanda ayırmaq mümkündür.

Çox yönlü: Müxtəlif bioloji nümunələri ayırmaq üçün istifadə edilə bilər.

Çətinliklər:

Maliyyət: Ultramərkəzdənqaçma cihazları çox bahalıdır və yüksək texniki xərclərə malikdir.

Prosesin uzun müddət davam etməsi: Kiçik hissəcikləri ayırmaq üçün uzun müddət yüksək sürətlə sentrifüqalama tələb olunur.

Dəqiqlik: Rotorun düzgün balanslaşdırılması çox vacibdir. Yanlış balanslaşdırma rotorun və cihazın zədələnməsi, həmçinin nümunələrin itirilməsi ilə nəticələnə bilər.

Kök hüceyrə mənşəli ekstraselulyar vezikullarının izolyasiyası

- Hüceyrələr 24-48 saat ərzində inkubasiya ediləcək
- İnkubasiyadan sonra kultivasiya supernatantı 50 ml tüplər içərisinə toplanacaq və supernatant 0.22 µm filtdən keçiriləcək
- Ekstraselulyar vezikul izolyasiyası üçün supernatantlardan istifadə ediləcək və ardıcıl sentrifüqasiya prosesləri ilə ekstraselulyar vezikullar əldə ediləcəkdir
- 10 dəqiqə ərzində 300x g'də sentrifüqasiya ediləcək və supernatant toplanacaq
- 10 dəqiqə 2600 x g'də sentrifüqa ediləcək və supernatant toplanacaq
- Əldə edilən supernatant 10 000 x g'də 1 saat və 100 000 x g'də 2 saat sentrifüqasiya ediləcək
- Çöküntü PBS ilə suspenziya ediləcək və 2 saat 100 000 x g'də sentrifüqasiya ediləcək
- Ekstraselulyar vezikulların çöküntü PBS ilə suspenziya ediləcək və -80°C-də saxlanacaq

Bitki mənşəli ekstraselulyar vezikullarının izolyasiyası

- Bitki ekstraktı əvvəlcə 1200 x g'də 20 dəqiqə, 3000 x g'də 20 dəqiqə, və 10 000 x g'də 60 dəqiqə 4°C temperaturda sentrifüqasiya ediləcək
- Hüceyrələr və hüceyrə qalıqları uzaqlaşdırılacaq
- Supernatant 0.22 µm filtdən keçirilərək yeni ultrasentrifüqa tüpünə köçürüləcək və 150 000 x g'də (4°C-də 120 dəqiqə) sentrifüqasiya ediləcək
- Sentrifüqasiya sonrası supernatant uzaqlaşdırılacaq və çöküntü 1 ml PBS'də həll ediləcək
- Təkrar 150 000 g'də 120 dəqiqə 4°C-də sentrifüqa ediləcək və ekstraselulyar vezikullar yenidən PBS ilə suspenziya ediləcək
- İstifadə olunana qədər -80°C-də saxlanacaq

Ekstraselulyar vezikulların xarakterizasiyası

- Ekstraselulyar vezikullara xas CD63, CD9, and CD81 səthi markerləri və hüceyrədaxili zülal olan HSP70 aşkarlanması Flow cytometri analizi ilə təyin olunacaq
- Tüblərə floresan izotiyosiyonat (FITC), fikoeritrin (PE) və allofikosiyanın (APC) işarətli monoklonal antikorlardan 5 µl, izotip kontrollardan (IgG1-FITC, IgG1-PE, IgG1-APC) 2.5 µl

	<p>əlavə edildikdən sonra toplam həcim %2 (v/v) FBS və PBS ehtiva edən tampon ilə 100 µl'ye tamamlanacaq</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nümunələr otaq temperaturunda qaranlıqda 20 dəqiqə gözlədiləcək • İnkubasiya sonrası PBS ilə iki dəfə yuyularaq hüceyrələr 3000 rpm 5 dəqiqə sentrifüqasiya ediləcək Hüceyrələr 500 µl boya tamponu içərisində suspansiya edilərək flow cytometry cihazı ilə analiz ediləcək • Analizlər; FL1 kanalında FITC florokrom işarətli 530 nm dalğa boylarında, FL2 kanalında PE florokrom işarətli 585 nm dalğa boylarında, FL4 kanalında APC florokrom işarətli 661 nm dalğa boylarında həyata keçiriləcək.
5	<p>Layihə üzrə elmi nəşrlər (məqalələr, monoqrafiyalar, icmallar, konfrans materialları, tezislər) (dərç olunmuş, çapa qəbul olunmuş və çapa göndərilmişləri ayrılıqda qeyd etməklə) <i>(surətlərini əlavə etməli!)</i></p> <p>Çapa qəbul olunmuş - 13-17 noyabr 2024 tarixində XLI. Türk Mikrobiyoloji Kongresi'nə göndərilmiş "Impact of the COVID-19 pandemic on antimicrobial resistance in neonatal sepsis" başlıqlı tezis çapa qəbul edilmişdir.</p>
6	<p>İxtira və patentlər, səmərələşdirici təkliflər <i>(burada doldurmalı)</i></p>
7	<p>Layihə üzrə ezamiyyətlər <i>(burada doldurmalı)</i></p>
8	<p>Layihə üzrə elmi ekspedisiyalarda iştirak <i>(burada doldurmalı)</i></p>
9	<p>Layihə üzrə digər tədbirlərdə iştirak</p> <p>-Leyla Həimova - 29- iyun 2024-cü il tarixində Azərbaycan İnfeksiyon Xəstəliklər və Klinik Mikrobiologiya Cəmiyyətinin 1-ci konfransında iştirak etmişdir. 4 paneldən ibarət olan konfrans proqramının hərərətlə seyr edilən infeksiyalar panelində antibiotiklərin rəasional istifadəsi haqqında məruzə edilmişdir. Bakteriyalarda antibiotik davamlılıqla mübarizə yolları müzakirə edilmişdir.</p> <p>-Sepsis və antibiotikterapiya; mövzusunda Beynəlxalq Elmi Konfrans.dekabr 2024-cü il tarixində "Hüceyrə Kulturası və Krioprezervasiyası" başlıqlı elmi seminarın keçirilməsi planlaşdırılmışdır. Bu seminarın əsas məqsədi hüceyrə kulturasının prinsipləri, metodları və tətbiq sahələri haqqında geniş və ətraflı məlumat təqdim etməkdir.</p> <p>Seminar çərçivəsində iştirakçılara hüceyrə kulturalarının yaradılması, saxlanması və krioprezervasiyası metodologiyası ilə bağlı müasir yanaşmalar təqdim ediləcəkdir. Bununla yanaşı, bu sahədəki ən son tədqiqat nəticələri və innovativ texnologiyalar müzakirə ediləcəkdir. Seminar, iştirakçıların müasir hüceyrə kultura texnologiyaları ilə tanış olmasına və bu texnologiyaların tətbiq sahələri ilə bağlı anlayışlarının genişlənməsinə imkan tanıyacaqdır.</p> <p>Eyni zamanda, müxtəlif qürum və institutlardan mütəxəssislərin dəvət edilməsi ilə əməkdaşlıqların inkişaf etdirilməsi planlaşdırılır. Bu, iştirakçılar arasında məlumat mübadiləsinə təşviq edərək, müştərək tədqiqatlar və layihələrin yaranmasına şərait yaradacaqdır. Nəticədə, seminar, həm akademik, həm də praktiki sahələrdə yeni əməkdaşlıqların formalaşmasına xidmət edəcəkdir.</p>
10	<p>Layihə mövzusu üzrə elmi məruzələr (seminarlar, konfranslar, dəyirmi masalar və s. çıxışlar)</p> <p>Leyla Həşimova – 26 iyul 2024-cü il tarixində ATU-nun Rezidentura və Magistratura şöbəsi ilə birgə</p>

	rezidentlər üçün "Antibiotik davamlılıq" mövzusunda məruzə etmişdir.
11	Layihə üzrə əldə olunmuş cihaz, avadanlıq və qurğular, mal və materiallar -
12	Yerli həmkarlarla əlaqələr Leyla Həşimova - 29- iyun 2024-cü il tarixində Azərbaycan İnfeksiyon Xəstəliklər və Klinik Mikrobiologiya Cəmiyyətinin 1-ci konfransında müxtəlif qurumlardan həkim-infeksiyonist, həkim-mikrobioloq, reanimatoloq, uroloq, ginekoloq və s. ixtisasdan həkimlərlə antibiotik davamlılıq mövzusunda fikir mübadiləsi aparmışdır. Problemin həll yolları geniş müzakirə olunmuşdur.
13	Xarici həmkarlarla əlaqələr Azərbaycan İnfeksiyon Xəstəliklər və Klinik Mikrobiologiya Cəmiyyətinin 1-ci konfransında prof.dr. Atahan Çağtay, prof.dr. Haluk Eraksoy, prof.dr.Serap Şimşək Yavuz məruzələrində Türkiyədəki infeksiyon xəstəliklərin və klinik mikrobiologiyanın dünəni və bu günü haqqında geniş məruzələr etdilər. Antibiotik davamlı bakteriyaların müasir müalicə metodlarından danışdılar.
14	Layihə mövzusu üzrə kadr hazırlığı (burada doldurmalı)
15	Sərgilərdə iştirak (burada doldurmalı)
16	Təcrübəartırmada iştirak və təcrübə mübadiləsi (burada doldurmalı)
17	Layihə mövzusu ilə bağlı elmi-kütləvi nəşrlər, kütləvi informasiya vasitələrində çıxışlar, yeni yaradılmış internet səhifələri və s. (burada doldurmalı)

Layihə rəhbərinin imzası _____ **Həşimova Leyla Nurəddin qızı**

Tarix _____

QEYD: bütün hallarda uyğun olan bəndlər doldurulmalıdır.